

Mestrado Integrado em Medicina

Dissertação

Fisiopatologia e fatores de risco associados ao desenvolvimento de colestase no período neonatal

Artigo de revisão bibliográfica

Marta Soares Pinto Carreira

Orientadora: Dr^a. Ermelinda Santos Silva

Junho de 2014

Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar

Mestrado Integrado em Medicina

Dissertação

Fisiopatologia e fatores de risco associados ao desenvolvimento de colestase no período neonatal

Artigo de revisão bibliográfica

Marta Soares Pinto Carreira

6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Orientadora: Drª. Ermelinda Santos Silva

Licenciada em Medicina

Assistente Hospitalar Graduada de Pediatria no Centro Hospitalar do Porto

Junho de 2014

Índice

Resumo	5
Palavras-chave	5
Abstract	5
Keywords	5
I. Introdução	6
1. Síntese da bile e ácidos biliares	6
2. Regulação neuroendócrina	7
3. Imaturidade fisiológica hepática	10
II. Fisiopatologia da Colestase	13
1. Principais mecanismos moleculares	14
2. Contributo das síndromes colestáticas familiares	16
3. Mecanismos de adaptação à colestase	18
III. Fatores de risco para desenvolver colestase neonatal	18
1. Infecção/Sépsis	19
2. Isquemia /Hipóxia	20
3. Choque	20
4. Pausa Alimentar/Nutrição parentérica	21
5. Prematuridade/Restrição do crescimento intrauterino	21
6. Fármacos	21
IV. Conclusão	22
V. Bibliografia	22
Anexos	31

Índice de Figuras

Figura 1: Metabolismo da bilirrubina	8
Figura 2: Regulação neuroendócrina dos colangiócitos.....	9
Figura 3: Mecanismos de transporte dos ácidos biliares, água e eletrólitos do hepatócito	14
Figura 4: Mecanismos moleculares de adaptação à colestase	17

Índice de abreviaturas

AE2 – trocador de aniões 2, **AMPc** - monofosfato de adenosina cíclico, **ATP** – adenosina trifosfato, **BRIC** – colestase intra-hepática benigna recorrente, **BSEP** - bomba exportadora de sais biliares, **CAR** - recetor constitutivo androstano, **CFTR** - regulador transmembranar da condutância da fibrose cística, **CMV** – Citomegalovírus, **CYP7A1**- colesterol-7alfa-hidroxilase, **FIC1**- colestase intra-hepática familiar tipo 1, **FSH** – hormona folículo- estimulante, **FXR** – recetor farnesóide, **GGT** –gama glutamil transferase, **VIH**- vírus da imunodeficiência humana, **ICP** – colestase intra-hepática da gravidez, **IL-1 β** – interleucina 1 β , **IL-6** – interleucina 6, **IP3** – trifosfato de inositol, **LPAC** - Colestase associada a baixo teor de fosfolípidos, **LPS** - lipopolissacarídeo , **MDR** –multirresistente a fármacos, **MRP** –multirresistente, **NR** – recetor nuclear, **NTCP** - cotransportador sódio/taurocolato, **OATP** - polipéptido transportador de aniões orgânicos, **OST α /OST β** – transportador de solutos orgânicos α/β , **PFIC** - colestase familiar progressiva intra-hepática, **PKA** – proteína cinase A, **PKC α** - proteína cinase dependente de cálcio, **PN** – nutrição parentérica, **PPAR α** - recetor alfa ativado pela proliferação de peroxissomas, **PXR** - recetor pregnano X, **RXR** – recetor retinóide X , **SHP** - *small heterodimer protein*, **SSTR2** - recetor da somatostatina 2, **TNF α** – fator de necrose tumoral alfa, **TORCH** – (painel TORCH) *Toxoplasma gondii*, outros vírus, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes simplex, **UDPGT** - uridina-difosfoglucuronato glucosiltransferase, **VDR** - recetor da vitamina D, **VEGF** – fator de crescimento do endotélio vascular, **VHA** – vírus da hepatite A, **VHB** – vírus da hepatite B, **VIP** - péptido intestinal vasoativo

Fisiopatologia e fatores de risco associados ao desenvolvimento de colestase no período neonatal

Marta Soares Pinto Carreira

Resumo

A colestase é o estado patológico em que há diminuição da formação de bile ou perturbação do seu fluxo.

Por detrás de uma colestase neonatal pode estar uma miríade de entidades nosológicas. Desde há muito, é sabido que o recém-nascido e o pequeno lactente desenvolvem colestase em resposta a uma grande variedade de agressões, hepáticas e sistémicas, o que torna a abordagem diagnóstica e terapêutica destes doentes num enorme desafio clínico.

Durante vários anos a imaturidade fisiológica do fígado neonatal justificou o aparecimento de colestase face aos mais variados insultos. Atualmente, com base no estudo da fisiopatologia molecular de várias síndromes colestáticas familiares, sabe-se que esta entidade compreende um enorme conjunto de alterações intracelulares na ativação de diversas vias de sinalização e na própria transcrição.

Esta dissertação pretende rever os avanços no conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos e fatores de risco associados ao desenvolvimento de colestase neonatal. Este conhecimento pode tornar menos complexa e mais assertiva a abordagem diagnóstica e terapêutica destes pequenos doentes.

Palavras-chave: colestase neonatal, fatores de risco, fisiopatologia da síntese e fluxo biliar, imaturidade do fígado, síndromes colestáticas familiares, transportadores da bile

Abstract

Cholestasis is defined as a pathologic state of reduced bile secretion or flow.

Neonatal cholestasis is associated with numerous possible causes. The neonate develops cholestasis in response to a wide variety of insults, both hepatic and systemic, turning the diagnostic and therapeutic approach of these patients into a huge challenge.

Until recently, the physiological immaturity of the liver in the end gestation has explained cholestasis in the newborn. However, recent progress has enhanced our understanding of the molecular mechanisms of normal bile secretion, mostly by the study of hereditary cholestatic syndromes. Nowadays, it's well known that cholestasis is associated with complex transcriptional and post transcriptional changes of hepatobiliary transporters and enzymes.

This review will summarize the main molecular mechanisms of cholestasis, which may simplify and strengthen the diagnostic and therapeutical approaches of these young patients.

Keywords: neonatal cholestasis neonatal, risk factors, pathophysiology of bile synthesis and flow, hepatic immaturity, familiar cholestatic syndromes, bile transporters

I. Introdução

O fígado é formado por dois tipos de células epiteliais, os hepatócitos e os colangiócitos. Este órgão desempenha uma importante função no metabolismo, particularmente através da síntese das mais variadas proteínas e enzimas, regulando o consumo energético, auxiliando a digestão e contribuindo ainda para a eliminação de uma miríade de moléculas endógenas e exógenas.^[1]

O epitélio biliar inicia-se no pólo canalicular dos hepatócitos, responsáveis pela produção e secreção da bile para o lúmen dos canálculos biliares^[2]. O local em que os canálculos biliares se encontram com os canais de Hering constitui a junção ducto-canalicular que é delineada quer por hepatócitos, quer por colangiócitos.^[3-5] Progressivamente, os canais de Hering desagüam nos ductos interlobulares, que apresentam diâmetros cada vez maiores até coalescerem nos dois ductos hepáticos, que posteriormente originam as vias biliares extra-hepáticas. O tamanho dos próprios colangiócitos vai aumentando à medida que nos afastamos da junção ducto-canalicular.^[5] Esta diferenciação histológica é importante, porque os colangiócitos pequenos e grandes têm características diferentes.

Embora ambos possuam núcleos multilobulares, numerosas vesículas apicais, junções apertadas e uma elevada densidade de microvilosidades, demonstrou-se que os pequenos colangiócitos, dependentes de cálcio, possuem um núcleo maior, comparativamente ao citoplasma, o que sugere que sejam células mais indiferenciadas, possivelmente uma subpopulação de células progenitoras

hepáticas.^[6-8] Os grandes colangiócitos expressam um maior número de canais e recetores de membrana, sendo capazes de responder melhor a estímulos neurohormonais, o que reflete uma maior maturidade celular.^[9]

Os colangiócitos são capazes de modificar a bile canalicular, antes de esta atingir o duodeno, através de fenómenos absorptivos e secretores, modulados através dos próprios ácidos biliares e de várias hormonas e péptidos gastrointestinais.

1. Síntese da bile e ácidos biliares

A bile é um fluido alcalino, produzido no fígado, cujos principais componentes são ácidos biliares (67%), fosfolípidos (22%), proteínas (4.5%), colesterol (4%) e bilirrubina (0,3%).^[10]

A bile tem o seu papel na digestão, atuando como surfactante, contribuindo para a emulsificação das gorduras alimentares.^[11] Esta atividade surfactante é conseguida essencialmente, através das propriedades dos ácidos biliares, que no intestino, adquirem a sua forma aniónica, o que facilita a sua agregação à volta de triglicerídeos e fosfolípidos, formando micelas e impedindo a gordura de coalescer em moléculas maiores.^[11] A dispersão das gorduras em pequenas micelas aumenta a área de atuação da lipase pancreática, capaz de digerir triglicerídeos em ácidos gordos e monoglicerídeos, que são facilmente absorvidos na parede intestinal.^[12] Neste sentido, como a bile aumenta a capacidade de absorver gorduras, torna-se também fundamental na absorção de substâncias solúveis em gordura, como é o caso das vitaminas A, D, E e K.^[11]

Após a sua produção no hepatócito, os ácidos biliares, são excretados através de transportadores específicos para os canalículos biliares, tornando-se no principal componente da bile, sendo esta posteriormente armazenada na vesícula biliar. No fim de cada refeição, a contração da vesícula biliar permite a libertação da bile (e dos ácidos biliares, na sua forma aniónica), para o intestino, onde facilitam a absorção de gorduras. Cerca de 95% dos ácidos biliares são, posteriormente, reabsorvidos no íleo distal, seguindo a circulação entero-hepática e, regressando ao fígado, permitindo a sua reutilização.^[10]

Para além da sua função na digestão, a bile auxilia na excreção da bilirrubina, um pigmento formado a partir de produtos resultantes da degradação da hemoglobina, mioglobina, citocromos, catálase, peroxidase e triptofano-pirrolase. Cerca de 80% da bilirrubina total tem origem na hemoglobina e por isso, qualquer condição associada ao aumento do *turnover* dos eritrócitos, leva também a um aumento da formação deste composto^[13]

A bilirrubina é gerada a partir da degradação catalítica do heme mediada por dois tipos de enzimas: a heme oxigenase e a biliverdina redutase. A heme oxigenase inicia este processo, gerando biliverdina que posteriormente é reduzida a bilirrubina, pela biliverdina redutase.^[13]

Após a sua formação no fígado, a bilirrubina liga-se à albumina, que a conduz até aos sinusoides hepáticos, onde o complexo albumina-bilirrubina se dissocia. Enquanto a albumina permanece no plasma, a bilirrubina, por seu turno, é transportada para o interior dos

hepatócitos por um processo de difusão facilitada.

No interior do hepatócito, a bilirrubina é conjugada com o ácido glucorónico através de um processo mediado pela UGT1A1, uma isoforma da uridina difosfoglucuronato glucosiltransferase (UGT). O diglucuronídeo de bilirrubina é o pigmento dominante na bile normal de um adulto saudável, representando cerca de 80% da bilirrubina total.^[11, 14]

A bilirrubina conjugada é excretada posteriormente pela membrana canalicular do hepatócito, contra um gradiente de concentração, através de transporte ativo. Como o transporte através da membrana sinusoidal é bidirecional, uma pequena fração de bilirrubina conjugada e não conjugada é transportada de novo para o sangue que atravessa os sinusoides, sendo reabsorvida por hepatócitos a jusante na corrente sanguínea.^[11, 14]

Após a libertação da bile para o intestino, a bilirrubina é reduzida pelas bactérias cólicas em moléculas de urobilinogénio e estercobilinogénio que posteriormente são eliminados pela urina e fezes.^[10, 11, 14] **(Figura 1)**

2. Regulação neuroendócrina

A secreção da bile é controlada essencialmente pelos colangiócitos, cuja função depende de variadas hormonas, que são segregadas por células neuroendócrinas, dispersas no trato gastrointestinal, especialmente no estômago, intestino delgado e pâncreas^[1] **(Figura 2).**

A secretina é a principal destas hormonas reguladoras da secreção da bile e, a sua ligação ao seu recetor específico,

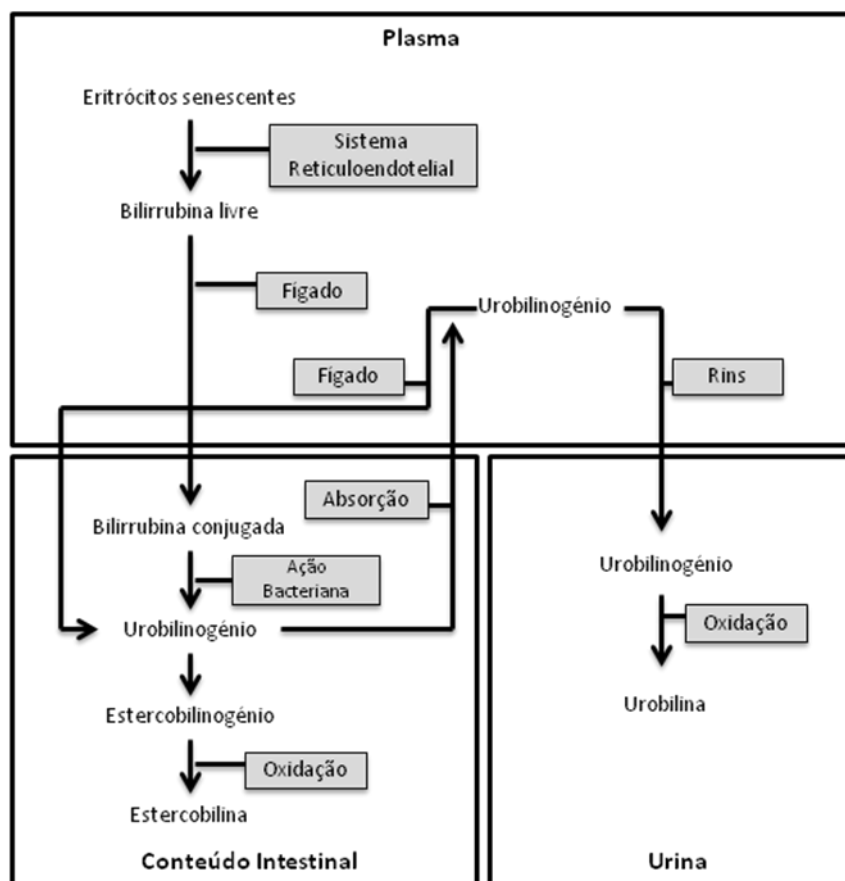


Figura 1: Metabolismo da bilirrubina

(Adaptado de Hall, J.E.G.A.C., *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 2011)

apenas presente na membrana dos grandes colangiócitos^[15], leva à ativação da proteína Gs, capaz de ativar a adenilciclase intracelular que por sua vez catalisa a transformação do ATP (adenosina trifosfato) em AMPc (monofosfato de adenosina cíclico). O AMPc é um segundo mensageiro crucial para várias reações bioquímicas e que neste caso específico, conduz à ativação das subunidades catalíticas da PKA (proteína cinase A) que vão fosforilar o CFTR (regulador transmembranar da condutância da fibrose cística), permitindo a saída de cloro.^[16] O aumento do cloro extracelular permite a ativação do trocador Cl-/HCO₃⁻ do colangiócito, favorecendo a excreção de bicarbonato na bile.^[17-21]

Além da sua função reguladora, a secretina atua também como fator trófico

dos colangiócitos, tendo sido demonstrado que a ausência do recetor da secretina, estava associada a uma diminuição, *in vivo* e *in vitro*, da proliferação biliar^[22].

A bombesina e o VIP (péptido intestinal vasoativo) produzem um efeito semelhante ao da secretina, sendo capazes de aumentar a excreção de água e bicarbonato através da bile, embora não o façam através do AMP cíclico.^[23, 24] A bombesina possui a capacidade de estimular a atividade do trocador Cl-/HCO₃⁻ em associação a uma ativação secundária do simporte Na⁺/HCO₃⁻, através de um processo dependente de canais de cloro e potássio.^[25] Os colangiócitos possuem ainda recetores de estrogénios^[26]. *In vitro*, a infusão de 17-beta-estradiol, aumentou a proliferação de colangiócitos, através da ativação de vias

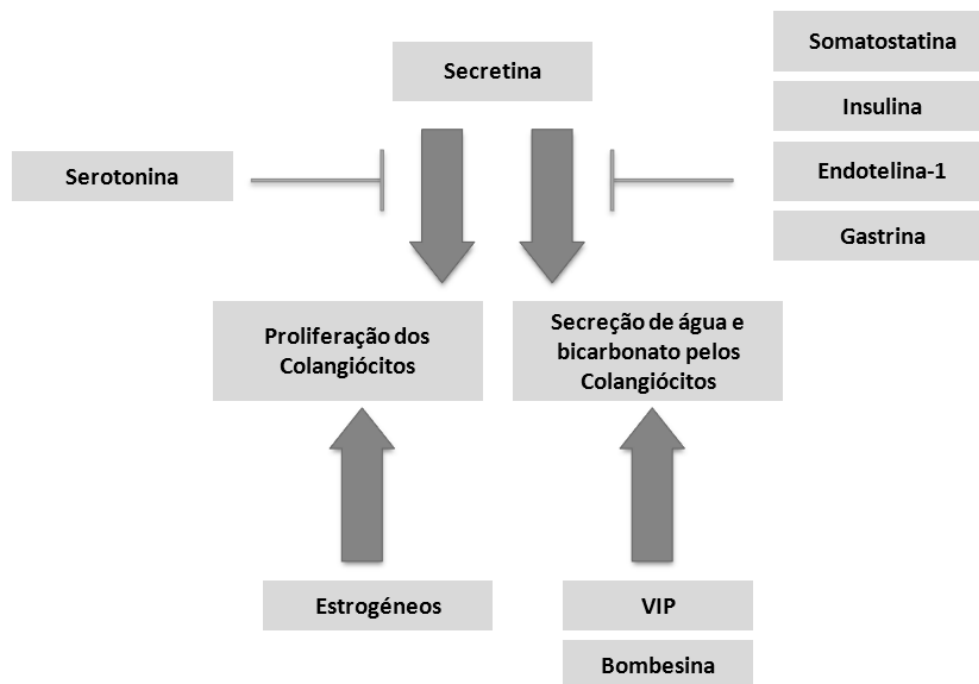


Figura 2: Regulação neuroendócrina dos colangiócitos

intracelulares dependentes dos recetores de estrogénio (Src/Shc/ERK1). Vários estudos demonstraram que a diminuição do nível de estrogénios mitigava o crescimento da árvore biliar e induzia a morte celular programada dos colangiócitos.^[27, 28]

Também o FSH, a progesterona e a prolactina são capazes de induzir a proliferação dos grandes colangiócitos, exercendo um efeito autócrino e parácrino sobre estes que são capazes de as produzir.^[29-31]

Por seu turno, a ligação da somatostatina ao seu recetor, SSTR2, ativa-o, inibindo o aumento da adenilciclase, promovido pela secretina, atuando, assim, no sentido oposto ao desta hormona, induzindo a absorção de bile^[17, 32, 33]. Também a ligação da insulina ao seu recetor, na membrana apical dos colangiócitos, reduz a colerese, através da ativação da PKCα (proteína cinase dependente de cálcio), que reduz, consequentemente, a ativação da PKA, impedindo o aumento dos níveis de AMPc

induzidos pela secretina.^[34] A endotelina 1, embora possua um efeito parecido, atua através da redução da expressão dos recetores da secretina.^[9, 35, 36]

No mesmo sentido, a ativação de recetores de gastrina na membrana dos colangiócitos induz a libertação de cálcio intracelular, aumento dos níveis de IP3 (trifosfato de inositol) e translocação da PKCα do citoesqueleto para a membrana.^[9] A PKCα ativada, por seu turno, é capaz de interferir com a sinalização da secretina, modulando a atividade da adenilciclase, produzindo um efeito semelhante ao da somatostatina. Por outro lado, para além da sua função reguladora da atividade fisiológica, demonstrou-se que a administração crónica de gastrina levava a uma redução na massa biliar, através da inibição da proliferação e indução da apoptose dos colangiócitos.^[37, 38]

Os colangiócitos possuem ainda recetores 1A e 1B de serotonina, que quando ativados reduzem a proliferação celular, o fluxo biliar e a excreção de bicarbonato, através do aumento de cálcio,

IP3 e PKC α , com redução consequente de AMPc e PKA.^[39, 40] Os próprios colangiócitos são capazes de produzir serotonina.^[28]

Alguns estudos recentes têm ressaltado a importância da melatonina, que também pode ser produzida no epitélio biliar.^[9] Sabe-se que os colangiócitos expressam receptores de melatonina MT1 e MT2, cuja ativação, do mesmo modo que a dos receptores de serotonina, leva a uma diminuição da proliferação biliar.^[9, 41, 42]

A secreção de bile é também regulada pelas aferências neuronais colinérgicas.^[28, 43] Os colangiócitos expressam receptores colinérgicos M3 no seu domínio basolateral. Embora a acetilcolina não produza qualquer efeito direto na atividade basal do trocador Cl/HCO $_3^-$, demonstrou-se que potencia o efeito estimulador da secretina. Sabe-se ainda que a acetilcolina mantém a proliferação dos colangiócitos, verificando-se que a interrupção do estímulo colinérgico por vagotomia leva a uma redução marcada da massa ductal, causada pela diminuição da capacidade de proliferação e do AMPc, bem como do aumento da morte celular programada.^[9, 44, 45] Estes estudos, também demonstraram que a manutenção de níveis elevados de AMPc, através da administração crônica de forskolina, previne os efeitos da vagotomia na proliferação, secreção e apoptose dos colangiócitos.^[28, 44]

A membrana dos grandes colangiócitos possui ainda receptores dopaminérgicos D2. A administração de um agonista dopaminérgico é capaz de inibir a secreção biliar, induzida pela secretina.^[46] De modo semelhante ao que acontece no intestino, a atividade adrenérgica poderá ter um papel importante nas vias biliares,

contrabalançando o efeito estimulador das aferências colinérgicas na secreção de bile nas doenças crônicas colestáticas.^[28]

3. **Imaturidade fisiológica hepática**

O fígado tem origem embriológica no divertículo hepático, uma protuberância da endoderme, localizada na porção distal do intestino anterior, que se diferencia durante a terceira semana de gestação. A porção cranial do divertículo hepático origina o fígado e as vias biliares intra-hepáticas, enquanto a sua porção caudal origina a vesícula biliar e as vias biliares extra-hepáticas. O divertículo hepático é constituído por hepatoblastos; células bipotenciais, com capacidade de originarem hepatócitos ou colangiócitos, encontrando-se em estreita relação com a mesoderme cardíaca e com *septum transversum*, que secretam fatores de crescimento responsáveis pela indução e diferenciação dos hepatoblastos. Os hepatoblastos proliferam rapidamente e penetram o *septum*, formando cordões de hepatócitos, designados por placas hepáticas. Estas encontram-se separadas por células da mesoderme que formam o endotélio especializado poroso, constituindo os sinusoides hepáticos.^[47]

As células dos ductos biliares, bem como os hepatócitos, têm, portanto, uma origem endodérmica, enquanto as células de Kupffer e as células endoteliais dos sinusoides hepáticos tem origem na mesoderme do *septum transversum*.^[47-49]

A estrutura funcional do fígado, o ácino hepático, encontra-se desenvolvida precocemente, no fim do terceiro mês de gestação. Aquando do nascimento, a arquitetura hepática, já se encontra bem estabelecida, embora o fígado ainda não se encontre completamente funcional,

apresentando alguma imaturidade fisiológica, principalmente a nível da síntese de fatores da coagulação, glicose, ácidos gordos, e bile, bem como na remoção de xenobióticos.^[48]

3.1 - Metabolismo proteico

No que diz respeito ao metabolismo proteico, o fígado é responsável pela síntese de várias proteínas, pela desaminação e interconversão de aminoácidos e pela formação de ureia, a partir da amónia. A principal proteína plasmática produzida pelo fígado fetal é a alfa-feto proteína que, pela altura do nascimento, se encontra em valores cerca de quatro vezes superiores ao normal.^[50] Esta concentração vai diminuindo progressivamente, atingindo valores normais no fim do primeiro ano de vida. Por seu turno, a síntese de albumina inicia-se na 16ª semana de gestação e atinge níveis adultos no fim da gestação (30-35g/L).^[48, 49]

Os fatores de coagulação são também produzidos no fígado fetal, à exceção do fator VIII, podendo ser medidos no plasma a partir da 10ª semana de gestação. No entanto, no fim da gestação, ainda apresentam valores fisiologicamente baixos, o que pode resultar quer de uma produção diminuída associada à imaturidade funcional do hepatócito e ao défice neonatal de vitamina K, quer de uma *clearance* aumentada, pela utilização destas proteínas na angiogénese, inflamação e reparação tecidual.^[51, 52]

Estes níveis baixos dos fatores II, VII, IX, e X foram relatados em vários estudos^[53] sendo medidos mesmo em recém-nascidos que receberam profilaxia com vitamina K. Os níveis serológicos dos fatores de coagulação começam a aumentar gradualmente após o parto,

atingindo valores normais aos 6 meses de vida.^[48, 54]

3.2 - Metabolismo da glicose e dos ácidos gordos

Durante a gestação, o feto recebe glicose continuamente a partir da circulação placentar, e apesar da glicemia fetal ser ligeiramente inferior à materna, os dois valores mantêm-se em equilíbrio, sendo a glicose, a principal fonte de energia do feto em condições fisiológicas.^[49]

Apesar do fígado do feto possuir a maquinaria enzimática necessária para a realização da gliconeogénese logo a partir da 8ª semana de gestação, este processo não ocorre *in utero*. Por outro lado, a síntese de glicogénio e a sua deposição iniciam-se precocemente, observando-se uma taxa de deposição de 3,4mg/g de tecido hepático pela 8ª semana, culminando numa deposição de 50mg/g, na altura do parto.^[49]

Assim, após o nascimento, com a quebra de fornecimento de glicose através do cordão, o recém-nascido tem necessidade de metabolizar as reservas hepáticas de glicogénio e os nutrientes entéricos que recebe com as primeiras refeições.^[55] A taxa de produção de glicose nos primeiros dias de vida é cerca de 4-6mg/kg/min,^[56] dos quais cerca de um terço é obtido através da glicogenólise, sendo o restante conseguido pela gliconeogénese. Esta via energética é dependente da atividade da fosfoenolpiruvato carboxinase, que se encontra muito reduzida no feto e que aumenta muito a sua atividade a seguir ao parto, permitindo o início da gliconeogénese cerca de duas horas, após o nascimento.^[55] Também a glucose-6-fosfatase, a enzima catalisadora

da reação final da glicogenólise e da gliconeogénese, apresenta níveis reduzidos de atividade *in utero*, apresentando, a termo, valores que rondam os 10% do normal, sendo, no entanto, capaz de os normalizar ao fim do 3º dia de vida.^[49]

Assim, devido a esta imaturidade enzimática, a glicemia pode apresentar-se baixa mesmo em recém-nascidos saudáveis, principalmente durante as primeiras 24h.^[57] Como tal, o recém-nascido utiliza outras vias energéticas, como a metabolização de ácidos gordos. No feto, a oxidação hepática destes compostos é reduzida, favorecendo a síntese de triglicerídeos no tecido adiposo. No entanto, após o nascimento, a lipólise é induzida quer pela libertação de catecolaminas, durante o parto, quer pela sensibilidade aumentada a hormonas lipolíticas e ao reduzido rácio insulina/glucagão, patente durante a amamentação.^[58-60] Este aumento da lipólise é acompanhado da síntese de corpos cetónicos, responsáveis por cerca de 25% da energia basal do recém-nascido durante os primeiros dias de vida e que se mantém elevada durante todo o período da amamentação.^[55, 57]

3.3 Biotransformação

A metabolização de xenobióticos também não se encontra totalmente desenvolvida no final da gestação, verificando-se uma limitação enzimática da capacidade de glucuronidação, patente pela reduzida excreção de bilirrubina conjugada e associada à baixa expressão de UDPGT durante a gestação e nos primeiros dias de vida. Após o nascimento, os níveis de UDPGT aumentam, atingindo cerca de 25% dos valores normais, ao 3º mês de vida.^[61, 62]

3.4 Síntese da bile

Durante as duas primeiras semanas de vida é frequente e até expectável que ocorra um aumento auto limitado da bilirrubina não conjugada. Esta icterícia fisiológica resulta de um aumento na produção de bilirrubina, conjugação desadequada e aumento da reabsorção da bilirrubina não conjugada através da circulação entero-hepática.

Aquando do nascimento, a conjugação e a excreção da bilirrubina ainda não se encontram na sua atividade máxima.^[63] Esta imaturidade é ainda mais explícita nos recém-nascidos prematuros por possuírem um maior número de eritrócitos senescentes, maior défice de transportadores hepáticos e de UGT1A1, o que justifica a maior duração e severidade da hiperbilirrubinémia neonatal, nestes casos.^[48, 49]

Por outro lado, os ácidos biliares são detetados no feto por volta da décima quarta semana de gestação, verificando-se uma proporção maior de ácido xenodesoxicólico, predominando as conjugações com taurina, contrastando com a bile adulta que possui o ácido cólico em maior percentagem e favorece a conjugação com glicina^[64-66]. Estes achados revelam diferenças peculiares entre a síntese de ácidos biliares entre adultos e recém-nascidos, que possivelmente poderão dever-se a um mecanismo protetor fisiológico, prevenindo a formação de compostos hepatotóxicos, como o litocolato.^[67, 68]

Tanto nos prematuros como nos recém-nascidos de termo, o *pool* de ácidos biliares sofre uma expansão notável no fim da gestação^[69]. Pela sétima semana de

vida, o pool de ácidos biliares é já semelhante ao de um adulto.^[70]

Os mecanismos responsáveis pela geração do fluxo biliar e recaptção de ácidos biliares não estão totalmente desenvolvidos no recém-nascido, demonstrando-se uma diminuição do fluxo biliar.

Durante a última parte da gestação há um aumento da atividade das enzimas envolvidas na síntese de ácidos biliares. Na altura do nascimento, o transporte de ácidos biliares através das membranas canalicular e basolateral do hepatócito aumenta, resultando numa mudança do *pool* de ácidos biliares do fígado para o intestino.^[71]

O último passo na maturação da circulação enterohepática ocorre quando o co-transportador de ácidos biliares e de sódio atinge o seu potencial máximo, resultando numa diminuição da concentração de ácidos biliares séricos.^[71] Logo após o nascimento, os níveis de ácidos biliares atingem a sua concentração fisiológica máxima, que se mantem elevada até aos seis meses de vida.^[72]

A hiperbilirrubinémia num recém-nascido pode assim, ser causada por variados mecanismos, manifestando-se através de icterícia, podendo ser uma manifestação de uma doença grave ou simplesmente o resultado da imaturidade do fígado do recém-nascido.

A icterícia não patológica do recém-nascido é causada por alterações fisiológicas no metabolismo da bilirrubina resultando no aumento da sua produção,

diminuição da excreção, associado a um aumento da circulação enterohepática.

Por outro lado, diversas condições podem estar associadas a hiperbilirrubinémia patológica, desde quadros de sépsis grave, à manifestação precoce de certas doenças do metabolismo ou a consequência da administração de alguns fármacos.

II. Fisiopatologia da Colestase

O desenvolvimento fisiológico da função hepática é caracterizado pela rápida maturação de alguns processos no final da gestação, embora permaneça uma certa “imaturidade fisiológica” durante vários meses após o nascimento para outros processos, entre os quais se inclui a formação da bile.^[71]

Mas se desde longa data esta “imaturidade” explicou, pelo menos em parte, a predisposição do recém-nascido para a colestase, o conhecimento da fisiopatologia molecular da colestase foi quase totalmente desconhecido até há pouco tempo. Especialmente nas duas últimas décadas produziram-se grandes avanços no conhecimento da fisiologia da formação da bile, levando a uma melhor compreensão das anomalias que conduzem à colestase. As descobertas recentes e a caracterização dos defeitos genéticos envolvidos em várias doenças colestáticas familiares conduziram a um melhor conhecimento dos mecanismos moleculares da formação da bile e das suas anomalias na colestase.^[73]

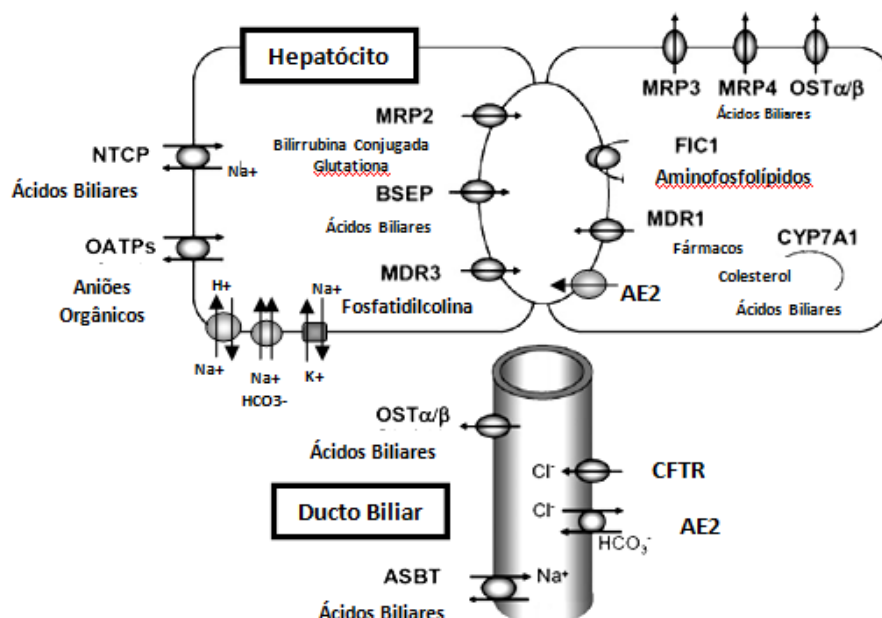


Figura 3: Mecanismos de transporte dos ácidos biliares, água e eletrólitos do hepatócito.

(Adaptado de Wagner, M., G. Zollner, and M. Trauner *New molecular insights into the mechanisms of cholestasis*. Journal of Hepatology, 2009.)

1. Principais mecanismos moleculares

Os hepatócitos são células polarizadas que possuem uma membrana basolateral, voltada para o espaço vascular sinusoidal e, uma superfície apical, que constitui a membrana canalicular^[74]. Os canalículos biliares são formados pelas membranas canaliculares de dois hepatócitos adjacentes, unidos por junções apertadas. As membranas do hepatócito são assim, biologicamente distintas, possuindo diferentes transportadores e canais e exercendo, conseqüentemente funções diferentes.^[75, 76] **(Figura 3)**

Os ácidos biliares são sintetizados no hepatócito, a partir do colesterol, através de um vasto conjunto de reações bioquímicas, iniciado pela ativação da CYP7A1 (colesterol-7 α -hidroxilase) e que constitui a via principal da formação destes compostos.^[12] Primeiramente, são segregados os dois ácidos biliares primários: o ácido cólico e o xenodesoxicólico que, no intestino através da atividade das bactérias residentes,

podem transformar-se em ácidos biliares secundários: ácido desoxicólico e litocólico.^[77] Antes da sua segregação, os hepatócitos podem conjugá-los com um de dois aminoácidos: glicina ou taurina para formar um conjunto de oito possíveis combinações de ácidos biliares.^[77] A conjugação dos ácidos biliares diminui a sua toxicidade e aumenta-lhes a solubilidade, facilitando a sua excreção na bile.^[78]

Através da circulação enterohepática, os ácidos biliares podem chegar novamente ao fígado, sendo reabsorvidos ao nível da sua membrana basolateral, que possui diversos canais e proteínas transportadoras que facilitam este processo.^[10, 71, 77] O transporte dos ácidos biliares conjugados é mediado pelo NTCP (cotransportador sódio/taurocolato) que exporta sódio para o exterior da célula. O controlo do potencial de ação através da alteração das concentrações de sódio e potássio através de uma Na⁺/K⁺-ATPase constitui a principal força motriz para as trocas iónicas que ocorrem na membrana

do hepatócito, permitindo a entrada de bicarbonato e ácidos biliares e a saída de prótons.^[10, 71, 73] Existem, no entanto, outros transportadores, independentes do sódio, como o OATP (polipéptido transportador de aniões orgânicos), responsável pelo transporte de aniões orgânicos, glutatona e alguns ácidos biliares, principalmente não conjugados.^[79, 80]

Nos casos de colestase, pode ocorrer transporte alternativo dos ácidos biliares e, através da membrana basolateral. Este transporte é mediado pelas MRP 3 e 4 (proteínas multirresistentes) e pelo transportador de solutos orgânicos OST α /OST β , que se encarregam de transferir os ácidos biliares para o lúmen sinusoidal, sendo posteriormente eliminados pela urina.^[81]

Foram propostas duas hipóteses distintas que tentam explicar os mecanismos que levam ao transporte dos ácidos biliares da membrana basolateral para a canalicular: a difusão simples, que envolve a ligação dos ácidos a proteínas intracelulares ou o transporte através de vesículas, que se movimentam devido à atividade contrátil espontânea do citoesqueleto.^[82-84]

Na membrana canalicular, o transporte de substâncias é mediado principalmente por proteínas da família MDR (proteínas multirresistentes a fármacos).^[9, 85] A MDR1 é responsável pela excreção de fármacos, toxinas e metabolitos endógenos e exógenos e hormonas esteróides. A MDR3 funciona como uma flipase, permitindo a translocação de fosfatidilcolina para a bile. A fosfatidilcolina é incorporada em micelas mistas, impedindo que os ácidos biliares, através das suas propriedades detergentes, danifiquem as paredes canaliculares. Os

ácidos biliares monoaniônicos são excretados pela BSEP (bomba exportadora de sais biliares), enquanto os ácidos biliares divalentes, bipolares ou glucoronidados são transportados pelo MRP2 (proteína multirresistente). Esta proteína tem também a capacidade de excretar glutatona, bilirrubina e outros aniões orgânicos. A membrana canalicular possui ainda um trocador de aniões, AE2, que secreta bicarbonato e absorve iões cloreto, desempenhando assim, um papel crucial, na excreção biliar, exponenciando o transporte biliar independente dos ácidos biliares.^[73]

A bile é posteriormente alterada, à medida que progride nos ductos biliares, através das propriedades dos colangiócitos que, regulados por hormonas neuroendócrinas, podem absorver ou secretar bicarbonato.^[9]

Os sistemas de transporte hepatobiliares são finamente regulados quer a nível transcricional quer a nível pós-transcricional.^[86] Os recetores nucleares (NR), ativados por ligandos específicos (como alguns constituintes da bile, certos produtos do metabolismo lipídico, bem como algumas hormonas e xenobióticos), atuam através da modificação da expressão genes alvo que codificam transportadores e enzimas do hepatócito e são, por isso, capazes de controlar a formação e excreção da bile em condições fisiológicas e patológicas.^[73, 86, 87]

O FXR (recetor farnesóide X) é um dos recetores nucleares mais bem estudados e desempenha um papel fundamental na regulação da síntese da bile, pela sua capacidade de alterar a transcrição da CYP7A1 e dos transportadores NTCP, BSEP, MRP2 e OATP da membrana do hepatócito, face a variações na concentração dos

ácidos biliares.^[73, 88, 89] O FXR pode induzir diretamente a expressão do BSEP, MRP2 e por outro lado, levar, de modo indireto, através da ativação da *small heterodimer protein* (SHP), à supressão da transcrição de CYP7A1, NTCP e OATP.^[73, 88, 89] Assim, de um modo geral, a ativação do FXR reduz a concentração hepatocelular de bile bem como a sua toxicidade, pela diminuição da produção de ácidos biliares.

Os recetores clássicos dos xenobióticos, PXR (recetor pregnano X), CAR (recetor constitutivo androstano) e VDR (recetor da vitamina D) constituem também recetores nucleares, sensíveis à bilirrubina e aos ácidos biliares, envolvidos essencialmente na regulação da transcrição de enzimas responsáveis pela desintoxicação e de exportadores de constituintes da bile, como o MRP3.^[90-93]

O PPAR α (recetor alfa ativado pela proliferação de peroxissomas) é um recetor nuclear envolvido na regulação de genes responsáveis pela homeostase lipídica, inflamação e também na síntese dos ácidos biliares, embora ainda não se conheça completamente o mecanismo subjacente a este processo.^[94, 95] Foi já demonstrado que os ácidos biliares são capazes de ativar o PPAR α através da ativação do FXR.^[96]

2. Contributo das síndromes colestáticas familiares

Os defeitos nos transportadores do hepatócito têm sido associados a um vasto espectro de doenças colestáticas que incluem a colestase familiar progressiva intra-hepática (PFIC), a colestase intra-hepática benigna recorrente (BRIC), colestase intra-hepática da gravidez (ICP), colestase induzida por fármacos, colelitíase intra-hepática e cirrose biliar do adulto.^[73] As mutações homozigóticas de alto

impacto causam colestase precoce em recém-nascidos, enquanto as variantes de baixo impacto resultam em síndromes colestáticas que se apresentam tardiamente, na adolescência ou no início da vida adulta. Mutações heterozigóticas de alguns transportadores podem condicionar apenas colestase associada à administração concomitante de fármacos ou a expressão aumentada de mediadores inflamatórios.^[73]

i. MDR3

A patologia classicamente descrita em associação à mutação da MDR3 é a PFIC tipo III, caracterizada pela incapacidade de excretar fosfolípidos necessários à formação de micelas mistas, que protegem o epitélio canalicular da atividade detergente dos ácidos biliares.^[10, 73, 97] Ao contrário dos outros tipos de PFIC, esta afeção caracteriza-se por uma elevação marcada da GGT sérica, refletindo a lesão celular induzida pelos ácidos biliares.

Variantes mutadas da MDR3 têm sido apontadas como causa de um síndrome colelitíásico associado a baixo teor de fosfolípidos (LPAC) e que se caracteriza por colestase crónica ligeira, litíase recorrente e risco aumentado de ICP.^[73, 98]

As mutações da MDR3 poderão ainda representar um papel nas síndromes colestáticas adquiridas, tendo sido associadas à ICP com elevação da GGT e à colestase induzida por fármacos transportados pela MDR3.^[73, 99-102]

ii. BSEP

As mutações da BSEP estão associadas a colestase marcada, classicamente associada à PFIC tipo II e, contrariamente ao que ocorre na PFIC tipo III, nesta patologia a lesão celular é restrita aos hepatócitos, justificando assim os níveis normais de GGT, encontrados nestes

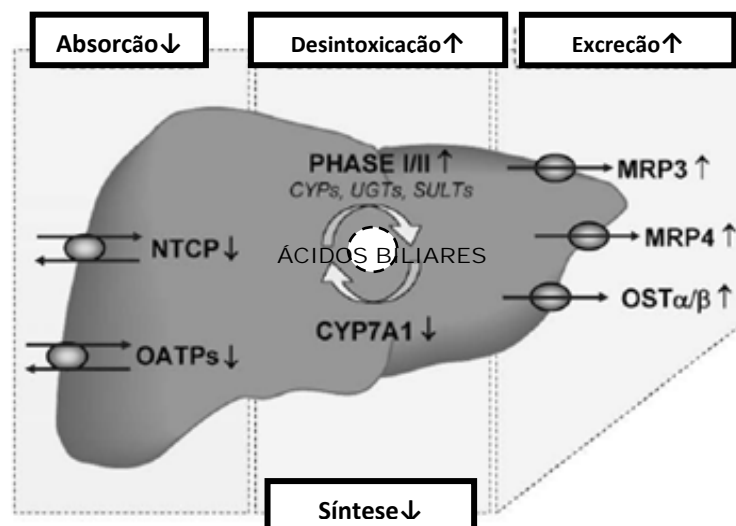


Figura 4: Mecanismos moleculares de adaptação à colestase.

(Adaptado de Wagner, M., G. Zollner, and M. Trauner, *New molecular insights into the mechanisms of cholestasis*. Journal of Hepatology, 2009.)

doentes.^[103] Sabe-se ainda que as mutações da BSEP impõem um risco aumentado de carcinoma hepatocelular em idades precoces, possivelmente associada ao potencial mutagénico dos ácidos biliares.^[104, 105]

Mutações atenuadas da BSEP podem ainda estar relacionadas com o desenvolvimento de BRIC-2. A observação de que alguns doentes que inicialmente se apresentaram com BRIC-2, evoluíram para PFIC tipo II, sugere que estas duas patologias pertençam a um mesmo espectro de condições relacionadas.^[73]

De modo semelhante ao que foi verificado no estudo das mutações da MDR3, também as mutações da BSEP podem estar associadas a síndromes colestáticas adquiridas como a ICP e a colestase induzida por fármacos.^[100, 101, 106]

iii. FIC1

A FIC1 é uma flipase que realiza a translocação da fosfatidilserina, desempenhando deste modo um papel crucial na manutenção da assimetria da membrana do hepatócito.^[107] A deficiência de FIC1 tem a sua representação clínica na forma de PFIC tipo I, que se apresenta geralmente durante o período neonatal

através de colestase e elevação sérica dos ácidos biliares, bilirrubina e transaminases associadas a uma concentração reduzida de ácidos biliares na bile e da GGT sérica.^[108, 109]

Além da PFIC tipo I, as mutações da FIC1 foram ainda associadas à BRIC-1, verificando-se que, tal como a BRIC-2, possui a capacidade de evoluir para PFIC.

iv. MRP2

O Síndrome de Dubin-Johnson é a patologia habitualmente associada às mutações na MRP2, responsável pelo transporte canalicular de bilirrubina conjugada e inúmeros aniões orgânicos e que, por isso, clinicamente, se caracteriza por icterícia na ausência de elevação sérica dos ácidos biliares.^[110-113]

Atualmente, das síndromes colestáticas adquiridos, apenas a ICP foi associada a mutações da MRP2.^[73]

v. AE2

A expressão reduzida de AE2 foi observada em doentes com cirrose biliar primária, contribuindo a redução do fluxo biliar bem como explicando o síndrome de Sjögren, associado a esta patologia, por se

distribuírem não apenas nos hepatócitos e colangiócitos mas também nas glândulas salivares e lacrimais.^[73, 114]

vi. CFTR

As mutações no CFTR constituem a causa etiológica da fibrose cística e conduzem a uma excreção reduzida de bicarbonato e espessamento de fluidos.^[115] A fibrose cística cursa com complicações hepatobiliares em cerca de 25% dos casos que podem manifestar-se através de colestase neonatal prolongada, esteatose hepática, cirrose nodular focal, cirrose multilobular e colangite esclerosante.^[73, 116, 117]

3. Mecanismos de adaptação à colestase

As alterações na expressão dos transportadores da membrana do hepatócito, face à colestase, podem ser elas próprias um fator etiológico ou pró colestático, ou por outro lado, representar um mecanismo de adaptação e proteção biológica, numa tentativa de minimizar a lesão celular induzida pela colestase.^[73, 92, 93, 118]

A elevação intra-hepática e sistêmica dos níveis dos ácidos biliares, bem como algumas citocinas pró-inflamatórias e o *stress* oxidativo, induzem uma resposta adaptativa que é coordenada principalmente por recetores nucleares, como o FXR, PPAR α , PXR e CAR, induzidos pelos próprios ácidos biliares e bilirrubina e que culmina na diminuição da transcrição dos transportadores basolaterais, NTCP e OATP, e do CYP7A1, e no aumento da expressão dos transportadores BSEP, MRP3, MRP4 e OST α/β .^[88, 90, 93, 119-121]

(Figura 4)

No mesmo sentido, a conjugação dos ácidos biliares através de reações enzimáticas de fase I e fase II, reduz a sua

toxicidade e aumenta-lhes a solubilidade, permitindo que sejam eliminados através da urina.^[92, 120, 122] Assim, estes mecanismos protetores não se restringem apenas ao fígado, envolvendo também as células renais, os enterócitos e os colangiócitos, observando-se um aumento da eliminação de ácidos biliares através do rim e do intestino.^[90, 92, 118]

Ainda assim, estes mecanismos protetores não são suficientes para impedir a lesão induzida pela colestase, devido ao fato da própria colestase e inflamação serem capazes de reduzir a expressão e a função dos recetores nucleares.

III. Fatores de risco para desenvolver colestase neonatal

A colestase neonatal define-se pela presença de bilirrubinemia conjugada superior a 1 mg/dl (se bilirrubina total inferior a 5 mg/dl) ou bilirrubinemia conjugada superior a 20% do valor de bilirrubina total, se este for superior a 5 mg/dl, em recém-nascidos (RN) ou lactentes até aos quatro meses de idade, ocorrendo em aproximadamente 1 em 2500 recém-nascidos de termo.^[123-125]

Por detrás desta entidade pode estar uma miríade de patologias raras (por vezes raríssimas), algumas delas com tratamento específico eficaz (médico ou cirúrgico), e cujo prognóstico pode depender da precocidade com que o mesmo é instituído^[123, 124]. **(Anexo 1)**

Mas no fígado imaturo do recém-nascido a colestase neonatal pode ocorrer também em associação a um ou vários fatores de risco, sem patologia subjacente. Esta condição de início precoce,

autolimitada, e transitória denomina-se **Colestase Neonatal Multifatorial Transitória** para a qual contribuem todas as condições clínicas associadas a maior imaturidade (prematuridade, restrição de crescimento intra-uterino), ou a maior *stress* oxidativo (isquemia, compromisso hemodinâmico, infecção, intervenções cirúrgicas, pausa alimentar, alimentação parentérica, fármacos...).^[125, 126]

1. Infecção/Sépsis

Todo o tipo de infecção, bacteriana, vírica ou parasitária, pode resultar em colestase neonatal. Nos quadros infecciosos, o atingimento hepático é muito variável, podendo manifestar-se por icterícia, hepatoesplenomegalia, e elevação das enzimas hepáticas, ou por um quadro severo de hepatite com sinais de insuficiência hepatocelular, ou septicemia com disfunção multiorgânica.^[125]

As infecções víricas do painel TORCH apresentam algumas manifestações clínicas semelhantes como a hepatomegalia, icterícia, pneumonite, *rash* e associam-se à prematuridade e restrição do crescimento intrauterino. Todas se podem apresentar com insuficiência hepática grave embora este achado seja mais frequente na infecção por Herpes simplex. Dos vírus hepatotróficos, apenas o VHA e o VHB foram associados a hepatite neonatal, embora no caso do VHA, seja um fenómeno raro. Habitualmente a infecção por estes agentes só causa icterícia quando cursa com insuficiência hepática grave. Menos comumente, as infecções por Echovirus, Adenovírus e Parvovirus B19 podem estar na origem de um quadro colestático. A colestase neonatal associada ao VIH congénito é também rara, manifestando-se, a nível hepático, através de hepatoesplenomegalia.^[127] A varicela

congénita deve ser suspeitada nos casos em que a mãe esteve exposta ou foi infectada nas duas últimas semanas antes do parto e apresenta-se de uma forma muito variável no recém-nascido, desde febre com erupção vesicular até uma doença disseminada com atingimento multiorgânico.^[125]

Também as infecções bacterianas podem estar na origem de um quadro de hiperbilirrubinémia conjugada associada a septicemia ou a infecção localizada extra hepática.^[127] De entre as etiologias bacterianas, é de salientar a infecção do trato urinário por *Escherichia coli*, que pode ter como única manifestação clínica a presença de icterícia.^[125]

A septicemia a Gram-negativos constitui também uma causa de colestase neonatal, tendo sido demonstrada uma diminuição do transporte da bilirrubina, bem como da captação e excreção canalicular de ácidos biliares e aniões orgânicos, secundárias a exposição a endotoxinas e a citocinas inflamatórias como o TNF- α .^[128-131] As citocinas pró-inflamatórias bem como o *stress* oxidativo são, assim, capazes de alterar o transporte hepatobiliar através da modificação da expressão dos transportadores membranares, das enzimas necessárias à formação dos ácidos biliares e de sinalizadores intracelulares que regulam a atividade, localização e estabilidade das proteínas.^[93, 132]

O LPS libertado por bactérias Gram-negativas é maioritariamente metabolizado no fígado, onde induz a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF α , IL-1 β , e IL-6, pelas células de Kupffer. Estas citocinas ativam recetores membranares dos hepatócitos e colangiócitos, levando a uma redução na

expressão de vários recetores nucleares que regulam a transcrição dos transportadores, resultando numa diminuição da excreção de bile e acumulação sérica e hepática de ácidos biliares e toxinas. De um modo geral, ocorre redução da expressão de FXR, PXR e CAR, com consequente diminuição da transcrição de NTCP, BSEP, MRP2, OATP.^[81, 93] Embora as células de Kupffer sejam as principais responsáveis pela produção destas citocinas, sabe-se que também os hepatócitos e colangiócitos podem produzi-las.^[93, 132, 133] O LPS também pode alterar o transporte hepatobiliar mesmo após a transcrição do mRNA, através da ativação de vias de sinalização celular que levam à redução do RXR (recetor retinóide X), necessário à expressão do FXR, CAR e PXR, contribuindo, desta maneira, para a manutenção da lesão colestática.

A septicemia induz ainda a libertação de óxido nítrico que, em baixas concentrações desempenha um papel protetor, através da indução de vasodilatação, manutenção do débito cardíaco e aumento do fluxo biliar. No entanto, níveis elevados deste composto foram associados à produção de radicais livres, contribuindo para a colestase, bem como para o colapso vascular e hipotensão grave.^[73, 93, 132]

Por outro lado, a septicemia induz o aumento da síntese de prostaglandinas, sendo de ressaltar que as prostaglandinas E reduzem a expressão de citocinas inflamatórias.^[132]

Sabendo que num recém-nascido, o metabolismo biliar ainda não está completamente desenvolvido, é possível inferir que no fígado fisiologicamente imaturo do recém-nascido, este tipo de insulto poderá facilmente desencadear um

processo colestático, amplificado pela acumulação de ácidos biliares hepatotóxicos.^[71]

2. Isquemia /Hipóxia

A colestase neonatal pode ocorrer em contexto de isquemia, através da alteração da expressão de transportadores do hepatócito. Em modelos animais, verificou-se que a isquemia consequente da interrupção total do suprimento sanguíneo do fígado, levava ao aumento da transcrição de VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular) em cerca de cinco vezes, em apenas 24 horas, induzindo alterações estruturais, como o aumento do retículo endoplasmático em colangiócitos e hepatócitos; e funcionais, observando-se reduções na excreção de ácidos biliares, associadas a diminuição da expressão de NTCP, BSEP e MRP2, bem como aumento da expressão de CFTR, associada à elevação intracelular do AMPc.^[134-138]

3. Choque

Nos casos de choque, o mecanismo molecular irá depender primariamente do tipo de choque em questão. O choque séptico constitui a principal causa de choque em recém-nascidos e a fisiopatologia subjacente ao desenvolvimento de colestase, neste contexto, é em tudo semelhante, à já explicada previamente no contexto de septicemia e infeção. O choque séptico compreende uma situação bem mais grave que a septicemia, por necessitar de suporte aminérgico para a manutenção das funções vitais e que se associa sempre a um pior prognóstico.

4. Pausa Alimentar/Nutrição parentérica

A nutrição parentérica (PN) tem sido utilizada com sucesso na alimentação do recém-nascido doente, embora se complique com colestase em um quinto dos casos.^[139, 140] A etiologia da colestase induzida por PN é desconhecida e provavelmente multifatorial, tendo sido identificados vários fatores de risco como baixo peso ao nascer, prematuridade, duração da PN, septicemia, ausência de nutrição entérica, administração de lípidos, dose elevada de hidratos de carbono, género masculino, toxicidade de minerais e fitoesteróis e ainda associação a choque.^[125, 140-147]

A colestase associada a PN constitui uma afeção grave que se instala rapidamente e que pode associar-se a morte precoce do recém-nascido, pela indução de fibrose, cirrose e hipertensão portal, antes dos 6 meses de vida.^[132, 148] O grau de colestase e o prognóstico relacionam-se com a presença ou não de septicemia, facilitada pelo maior risco de infeções por cateter.^[132]

A nível molecular, verificou-se que a colestase induzida por PN estava associada a uma redução do fluxo biliar em modelos animais, que poderá ser explicada pela redução da transcrição de BSEP, MRP2 e MDR2, causada pela diminuição da expressão de vários recetores nucleares.^[149]

Recentemente, soluções alternativas de lípidos ricas em ω -3 têm demonstrado ser capazes de reverter as alterações bioquímicas associadas a colestase por PN.^[148, 150]

5. Prematuridade/Restrição do crescimento intrauterino

O recém-nascido pré termo, sujeito a inúmeras agressões ambientais e muitas vezes dependente de nutrição parentérica prolongada, desenvolve, frequentemente, colestase, amplificada pela sua maior fragilidade imunológica e imaturidade metabólica.^[125]

6. Fármacos

É sabido que existem vários fármacos capazes de causar lesão hepática colestática (**Anexo 2**) através de reações idiossincráticas ou, mais frequentemente, por mecanismos dependentes da dose.^[93, 151]

A colestase deve-se à inibição da expressão de MRP2, MDR1, MDR3 e BSEP, via repressão do FXR, pelo fármaco em si, ou pelos seus metabolitos daí que, as mutações que por si só resultem em diminuição da expressão destes transportadores acarretam um risco superior de causar colestase associada a administração de fármacos. O polimorfismo V44A da BSEP foi associado a um maior risco de colestase induzida por fármacos.^[73, 93, 101, 152-154]

Os antibióticos são os fármacos mais associados a colestase.^[152] Num recém-nascido, a administração destes irá causar colestase pelos mesmos mecanismos de inibição intracelular dos transportadores, aos quais se soma a imaturidade subjacente ao fígado do recém-nascido.

IV. Conclusão

A colestase neonatal é uma entidade que pode ser a expressão clínica de várias patologias subjacentes (raras, ou raríssimas) ou o resultado da atuação de diversos fatores de risco agindo sobre um fígado imaturo (prematuridade, RCIU, asfixia, compromisso hemodinâmico, infecção, intervenções cirúrgicas, pausa alimentar, alimentação parentérica, fármacos).

O conhecimento dos mecanismos moleculares que explicam a colestase foi obtido através do estudo das síndromes colestáticas intra-hepáticas familiares.

De um modo geral, o desenvolvimento de colestase traduz alterações intracelulares na expressão dos recetores nucleares, quer por mutações

condicionadas geneticamente, quer por alterações da transcrição induzidas por diversos insultos. Os recetores nucleares, nomeadamente o FXR, têm aqui um papel crucial, conduzindo a alterações da função e da proliferação dos hepatócitos e dos colangiócitos. Assim, a intervenção farmacológica na colestase deve ter por objetivo a modulação destas vias reguladoras enzimáticas.

A descoberta dos mecanismos moleculares da colestase tem vindo a ter um grande impacto na abordagem clínica destes doentes. Por um lado, este conhecimento tem aumentado a acuidade diagnóstica das patologias subjacentes e por outro, pode abrir linhas de investigação para novas estratégias terapêuticas.

V. Bibliografia

1. Alpini, G., J.M. McGill, and N.F. Larusso, *The pathobiology of biliary epithelia*. Hepatology, 2002. **35**(5): p. 1256-68.
2. Nathanson, M.H. and J.L. Boyer, *Mechanisms and regulation of bile secretion*. Hepatology, 1991. **14**(3): p. 551-66.
3. Roskams, T.A., et al., *Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers*. Hepatology, 2004. **39**(6): p. 1739-45.
4. Gaudio, E., et al., *New insights into liver stem cells*. Dig Liver Dis, 2009. **41**(7): p. 455-62.
5. Turner, R., et al., *Human hepatic stem cell and maturational liver lineage biology*. Hepatology, 2011. **53**(3): p. 1035-45.
6. Benedetti, A., et al., *A morphometric study of the epithelium lining the rat intrahepatic biliary tree*. J Hepatol, 1996. **24**(3): p. 335-42.
7. Alpini, G., et al., *Heterogeneity of the proliferative capacity of rat cholangiocytes after bile duct ligation*. Am J Physiol, 1998. **274**(4 Pt 1): p. G767-75.
8. LeSage, G.D., et al., *Acute carbon tetrachloride feeding induces damage of large but not small cholangiocytes from BDL rat liver*. Am J Physiol, 1999. **276**(5 Pt 1): p. G1289-301.
9. Han, Y., et al., *Recent advances in the morphological and functional heterogeneity of the biliary epithelium*. Exp Biol Med (Maywood), 2013. **238**(5): p. 549-65.
10. Reshetnyak, V.I., *Physiological and molecular biochemical mechanisms of bile formation*. World J

- Gastroenterol, 2013. **19**(42): p. 7341-60.
11. Hall, J.E.G.A.C., *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 2011, Philadelphia, Pa.: Saunders/Elsevier.
12. Chiang, J.Y., *Bile acid metabolism and signaling*. Compr Physiol, 2013. **3**(3): p. 1191-212.
13. Berk, P.D., et al., *Studies of bilirubin kinetics in normal adults*. J Clin Invest, 1969. **48**(11): p. 2176-90.
14. Longo, D.L., *Harrison's principles of internal medicine*. 2012, New York: McGraw-Hill.
15. Alpini, G., et al., *Molecular and functional heterogeneity of cholangiocytes from rat liver after bile duct ligation*. Am J Physiol, 1997. **272**(2 Pt 1): p. G289-97.
16. Moran, O., *Model of the cAMP activation of chloride transport by CFTR channel and the mechanism of potentiators*. J Theor Biol, 2010. **262**(1): p. 73-9.
17. Nyberg, B., *Bile secretion in man. The effects of somatostatin, vasoactive intestinal peptide and secretin*. Acta Chir Scand Suppl, 1990. **557**: p. 1-40.
18. Fitz, J.G., et al., *Regulation of membrane chloride currents in rat bile duct epithelial cells*. J Clin Invest, 1993. **91**(1): p. 319-28.
19. Alpini, G., et al., *Upregulation of secretin receptor gene expression in rat cholangiocytes after bile duct ligation*. Am J Physiol, 1994. **266**(5 Pt 1): p. G922-8.
20. Alpini, G., et al., *Morphological, molecular, and functional heterogeneity of cholangiocytes from normal rat liver*. Gastroenterology, 1996. **110**(5): p. 1636-43.
21. Alvaro, D., A. Mennone, and J.L. Boyer, *Role of kinases and phosphatases in the regulation of fluid secretion and Cl-/HCO₃-exchange in cholangiocytes*. Am J Physiol, 1997. **273**(2 Pt 1): p. G303-13.
22. Glaser, S., et al., *Knockout of secretin receptor reduces large cholangiocyte hyperplasia in mice with extrahepatic cholestasis induced by bile duct ligation*. Hepatology, 2010. **52**(1): p. 204-14.
23. Nyberg, B., K. Einarsson, and T. Sonnenfeld, *Evidence that vasoactive intestinal peptide induces ductular secretion of bile in humans*. Gastroenterology, 1989. **96**(3): p. 920-4.
24. Cho, W.K. and J.L. Boyer, *Vasoactive intestinal polypeptide is a potent regulator of bile secretion from rat cholangiocytes*. Gastroenterology, 1999. **117**(2): p. 420-8.
25. Cho, W.K., et al., *Bombesin stimulates bicarbonate secretion from rat cholangiocytes: implications for neural regulation of bile secretion*. Gastroenterology, 1997. **113**(1): p. 311-21.
26. Alvaro, D., et al., *Estrogens stimulate proliferation of intrahepatic biliary epithelium in rats*. Gastroenterology, 2000. **119**(6): p. 1681-91.
27. Alvaro, D., et al., *Estrogens and the pathophysiology of the biliary tree*. World J Gastroenterol, 2006. **12**(22): p. 3537-45.
28. Marziani, M., G. Fava, and A. Benedetti, *Nervous and Neuroendocrine regulation of the pathophysiology of cholestasis and of biliary carcinogenesis*. World J Gastroenterol, 2006. **12**(22): p. 3471-80.
29. Taffetani, S., et al., *Prolactin stimulates the proliferation of normal female cholangiocytes by differential regulation of Ca²⁺-dependent PKC isoforms*. BMC Physiol, 2007. **7**: p. 6.
30. Glaser, S., et al., *Progesterone stimulates the proliferation of female and male cholangiocytes via autocrine/paracrine mechanisms*. Am J Physiol

- Gastrointest Liver Physiol, 2008. **295**(1): p. G124-g136.
31. Mancinelli, R., et al., *Follicle-stimulating hormone increases cholangiocyte proliferation by an autocrine mechanism via cAMP-dependent phosphorylation of ERK1/2 and Elk-1*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009. **297**(1): p. G11-26.
 32. Tietz, P.S., et al., *Somatostatin inhibits secretin-induced ductal hypercholerisis and exocytosis by cholangiocytes*. Am J Physiol, 1995. **269**(1 Pt 1): p. G110-8.
 33. Gong, A.Y., et al., *Somatostatin stimulates ductal bile absorption and inhibits ductal bile secretion in mice via SSTR2 on cholangiocytes*. Am J Physiol Cell Physiol, 2003. **284**(5): p. C1205-14.
 34. Lesage, G.D., et al., *Insulin inhibits secretin-induced ductal secretion by activation of PKC alpha and inhibition of PKA activity*. Hepatology, 2002. **36**(3): p. 641-51.
 35. Tanaka, A., et al., *Endothelin-1 stimulates bile acid secretion and vesicular transport in the isolated perfused rat liver*. Am J Physiol, 1994. **266**(2 Pt 1): p. G324-9.
 36. Caligiuri, A., et al., *Endothelin-1 inhibits secretin-stimulated ductal secretion by interacting with ETA receptors on large cholangiocytes*. Am J Physiol, 1998. **275**(4 Pt 1): p. G835-46.
 37. Glaser, S., et al., *Gastrin inhibits cholangiocyte growth in bile duct-ligated rats by interaction with cholecystokinin-B/Gastrin receptors via D-myo-inositol 1,4,5-triphosphate-, Ca(2+)-, and protein kinase C alpha-dependent mechanisms*. Hepatology, 2000. **32**(1): p. 17-25.
 38. Glaser, S., et al., *Gastrin reverses established cholangiocyte proliferation and enhanced secretin-stimulated ductal secretion of BDL rats by activation of apoptosis through increased expression of Ca2+-dependent PKC isoforms*. Liver Int, 2003. **23**(2): p. 78-88.
 39. Swain, M.G. and M. Maric, *Improvement in cholestasis-associated fatigue with a serotonin receptor agonist using a novel rat model of fatigue assessment*. Hepatology, 1997. **25**(2): p. 291-4.
 40. Kanno, N., et al., *Regulation of cholangiocyte bicarbonate secretion*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001. **281**(3): p. G612-25.
 41. Huang, L.T., et al., *Melatonin ameliorates bile duct ligation-induced systemic oxidative stress and spatial memory deficits in developing rats*. Pediatr Res, 2009. **65**(2): p. 176-80.
 42. Tahan, G., et al., *Melatonin ameliorates liver fibrosis induced by bile-duct ligation in rats*. Can J Surg, 2010. **53**(5): p. 313-8.
 43. Kaminski, D.L., J. Dorigi, and M. Jellinek, *Effect of electrical vagal stimulation on canine hepatic bile flow*. Am J Physiol, 1974. **227**(2): p. 487-93.
 44. LeSag, E.G., et al., *Cholinergic system modulates growth, apoptosis, and secretion of cholangiocytes from bile duct-ligated rats*. Gastroenterology, 1999. **117**(1): p. 191-9.
 45. Marzioni, M., et al., *Taurocholate prevents the loss of intrahepatic bile ducts due to vagotomy in bile duct-ligated rats*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003. **284**(5): p. G837-52.
 46. Glaser, S., et al., *Dopaminergic inhibition of secretin-stimulated choleresis by increased PKC-gamma expression and decrease of PKA activity*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003. **284**(4): p. G683-94.
 47. Sadler, T.W.L., Jan, *Langman's Medical Embryology*. 11th ed. 2010, Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins.

48. Beath, S.V., *Hepatic function and physiology in the newborn*. Seminars in Neonatology, 2003. **8**(5): p. 337-346.
49. Grijalva, J. and K. Vakili, *Neonatal liver physiology*. Semin Pediatr Surg, 2013. **22**(4): p. 185-9.
50. Blohm, M.E., et al., *Alpha 1-fetoprotein (AFP) reference values in infants up to 2 years of age*. Pediatr Hematol Oncol, 1998. **15**(2): p. 135-42.
51. Sharma, A., S. Ford, and J. Calvert, *Adaptation for life: a review of neonatal physiology*. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, 2011. **12**(3): p. 85-90.
52. Revel-Vilk, S., *The conundrum of neonatal coagulopathy*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2012. **2012**: p. 450-4.
53. Andrew, M., et al., *Development of the human coagulation system in the healthy premature infant*. Blood, 1988. **72**(5): p. 1651-7.
54. Monagle, P. and P. Massicotte, *Developmental haemostasis: secondary haemostasis*. Semin Fetal Neonatal Med, 2011. **16**(6): p. 294-300.
55. Ward Platt, M. and S. Deshpande, *Metabolic adaptation at birth*. Semin Fetal Neonatal Med, 2005. **10**(4): p. 341-50.
56. Beardsall, K., *Measurement of glucose levels in the newborn*. Early Hum Dev, 2010. **86**(5): p. 263-7.
57. Hawdon, J.M., M.P. Ward Platt, and A. Aynsley-Green, *Patterns of metabolic adaptation for preterm and term infants in the first neonatal week*. Arch Dis Child, 1992. **67**(4 Spec No): p. 357-65.
58. Girard, J.R., et al., *Fuels, hormones, and liver metabolism at term and during the early postnatal period in the rat*. J Clin Invest, 1973. **52**(12): p. 3190-200.
59. Marcus, C., et al., *Regulation of lipolysis during the neonatal period. Importance of thyrotropin*. J Clin Invest, 1988. **82**(5): p. 1793-7.
60. Herrera, E. and E. Amusquivar, *Lipid metabolism in the fetus and the newborn*. Diabetes Metab Res Rev, 2000. **16**(3): p. 202-10.
61. Sato, Y., *Pharmacokinetics of antibiotics in neonates*. Acta Paediatr Jpn, 1997. **39**(1): p. 124-31.
62. Coughtrie, M.W., et al., *The inadequacy of perinatal glucuronidation: immunoblot analysis of the developmental expression of individual UDP-glucuronosyltransferase isoenzymes in rat and human liver microsomes*. Mol Pharmacol, 1988. **34**(6): p. 729-35.
63. Raju, T.N., *Developmental physiology of late and moderate prematurity*. Semin Fetal Neonatal Med, 2012. **17**(3): p. 126-31.
64. Elliott, W.H. and P.M. Hyde, *Metabolic pathways of bile acid synthesis*. Am J Med, 1971. **51**(5): p. 568-79.
65. Lester, R., et al., *Diversity of bile acids in the fetus and newborn infant*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1983. **2**(2): p. 355-64.
66. Gustafsson, J., *Bile acid biosynthesis during development: hydroxylation of C27-sterols in human fetal liver*. J Lipid Res, 1986. **27**(8): p. 801-6.
67. Attili, A.F., et al., *Bile acid-induced liver toxicity: relation to the hydrophobic-hydrophilic balance of bile acids*. Med Hypotheses, 1986. **19**(1): p. 57-69.
68. Hofmann, A.F., *Detoxification of lithocholic acid, a toxic bile acid: relevance to drug hepatotoxicity*. Drug Metab Rev, 2004. **36**(3-4): p. 703-22.
69. Little, J.M., et al., *Taurocholate pool size and distribution in the fetal rat*. J Clin Invest, 1979. **63**(5): p. 1042-9.
70. Heubi, J.E., W.F. Balistreri, and F.J. Suchy, *Bile salt metabolism in the first year of life*. J Lab Clin Med, 1982. **100**(1): p. 127-36.

71. McBride Emerick, K. and P.F. Whittington, *Molecular basis of neonatal cholestasis*. Pediatric Clinics of North America, 2002. **49**(1): p. 221-235.
72. Suchy, F.J., et al., *Physiologic cholestasis: elevation of the primary serum bile acid concentrations in normal infants*. Gastroenterology, 1981. **80**(5 pt 1): p. 1037-41.
73. Wagner, M., G. Zollner, and M. Trauner, *New molecular insights into the mechanisms of cholestasis*. J Hepatol, 2009. **51**(3): p. 565-80.
74. Arrese, M., M. Ananthanarayanan, and F.J. Suchy, *Hepatobiliary transport: molecular mechanisms of development and cholestasis*. Pediatr Res, 1998. **44**(2): p. 141-7.
75. Trauner, M., P.J. Meier, and J.L. Boyer, *Molecular pathogenesis of cholestasis*. N Engl J Med, 1998. **339**(17): p. 1217-27.
76. Trauner, M., P.J. Meier, and J.L. Boyer, *Molecular regulation of hepatocellular transport systems in cholestasis*. J Hepatol, 1999. **31**(1): p. 165-78.
77. Costanzo, L.S., *Physiology* 4th ed. 2010, Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier: Saunders/Elsevier.
78. Gu, J.J., et al., *Solubility of calcium salts of unconjugated and conjugated natural bile acids*. J Lipid Res, 1992. **33**(5): p. 635-46.
79. Meier, P.J., et al., *Substrate specificity of sinusoidal bile acid and organic anion uptake systems in rat and human liver*. Hepatology, 1997. **26**(6): p. 1667-77.
80. Meier, P.J. and B. Stieger, *Bile salt transporters*. Annu Rev Physiol, 2002. **64**: p. 635-61.
81. Wagner, M., G. Zollner, and M. Trauner, *Nuclear receptor regulation of the adaptive response of bile acid transporters in cholestasis*. Semin Liver Dis, 2010. **30**(2): p. 160-77.
82. Kaplowitz, N., *Physiological significance of glutathione S-transferases*. Am J Physiol, 1980. **239**(6): p. G439-44.
83. Crawford, J.M., C.A. Berken, and J.L. Gollan, *Role of the hepatocyte microtubular system in the excretion of bile salts and biliary lipid: implications for intracellular vesicular transport*. J Lipid Res, 1988. **29**(2): p. 144-56.
84. Lamri, Y., et al., *Immunoperoxidase localization of bile salts in rat liver cells. Evidence for a role of the Golgi apparatus in bile salt transport*. J Clin Invest, 1988. **82**(4): p. 1173-82.
85. Dawson, P.A., T. Lan, and A. Rao, *Bile acid transporters*. J Lipid Res, 2009. **50**(12): p. 2340-57.
86. Trauner, M. and J.L. Boyer, *Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation*. Physiol Rev, 2003. **83**(2): p. 633-71.
87. Houten, S.M. and J. Auwerx, *The enterohepatic nuclear receptors are major regulators of the enterohepatic circulation of bile salts*. Ann Med, 2004. **36**(7): p. 482-91.
88. Modica, S., R.M. Gadaleta, and A. Moschetta, *Deciphering the nuclear bile acid receptor FXR paradigm*. Nucl Recept Signal, 2010. **8**: p. e005.
89. Trauner, M. and E. Halilbasic, *Nuclear receptors as new perspective for the management of liver diseases*. Gastroenterology, 2011. **140**(4): p. 1120-1125 e1-12.
90. Wagner, M. and M. Trauner, *Transcriptional regulation of hepatobiliary transport systems in health and disease: implications for a rationale approach to the treatment of intrahepatic cholestasis*. Ann Hepatol, 2005. **4**(2): p. 77-99.
91. Wagner, M., et al., *CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and*

- elimination pathways in mice. *Hepatology*, 2005. **42**(2): p. 420-30.
92. Zollner, G., et al., *Role of nuclear receptors in the adaptive response to bile acids and cholestasis: pathogenetic and therapeutic considerations*. *Mol Pharm*, 2006. **3**(3): p. 231-51.
 93. Halilbasic, E., T. Claudel, and M. Trauner, *Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond*. *J Hepatol*, 2013. **58**(1): p. 155-68.
 94. Hunt, M.C., et al., *The peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) regulates bile acid biosynthesis*. *J Biol Chem*, 2000. **275**(37): p. 28947-53.
 95. Li, F., et al., *Metabolomics reveals an essential role for peroxisome proliferator-activated receptor alpha in bile acid homeostasis*. *J Lipid Res*, 2012. **53**(8): p. 1625-35.
 96. Pineda Torra, I., et al., *Bile acids induce the expression of the human peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene via activation of the farnesoid X receptor*. *Mol Endocrinol*, 2003. **17**(2): p. 259-72.
 97. Jacquemin, E., et al., *The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood*. *Gastroenterology*, 2001. **120**(6): p. 1448-58.
 98. Lucena, J.F., et al., *A multidrug resistance 3 gene mutation causing cholelithiasis, cholestasis of pregnancy, and adulthood biliary cirrhosis*. *Gastroenterology*, 2003. **124**(4): p. 1037-42.
 99. Smith, A.J., et al., *MDR3 P-glycoprotein, a phosphatidylcholine translocase, transports several cytotoxic drugs and directly interacts with drugs as judged by interference with nucleotide trapping*. *J Biol Chem*, 2000. **275**(31): p. 23530-9.
 100. Pauli-Magnus, C., et al., *Sequence analysis of bile salt export pump (ABCB11) and multidrug resistance p-glycoprotein 3 (ABCB4, MDR3) in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy*. *Pharmacogenetics*, 2004. **14**(2): p. 91-102.
 101. Lang, C., et al., *Mutations and polymorphisms in the bile salt export pump and the multidrug resistance protein 3 associated with drug-induced liver injury*. *Pharmacogenet Genomics*, 2007. **17**(1): p. 47-60.
 102. Wasmuth, H.E., et al., *Intrahepatic cholestasis of pregnancy: the severe form is associated with common variants of the hepatobiliary phospholipid transporter ABCB4 gene*. *Gut*, 2007. **56**(2): p. 265-70.
 103. Strautnieks, S.S., et al., *A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis*. *Nat Genet*, 1998. **20**(3): p. 233-8.
 104. Bernstein, H., et al., *Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers*. *Mutat Res*, 2005. **589**(1): p. 47-65.
 105. Knisely, A.S., et al., *Hepatocellular carcinoma in ten children under five years of age with bile salt export pump deficiency*. *Hepatology*, 2006. **44**(2): p. 478-86.
 106. Meier, Y., et al., *Increased susceptibility for intrahepatic cholestasis of pregnancy and contraceptive-induced cholestasis in carriers of the 1331T>C polymorphism in the bile salt export pump*. *World J Gastroenterol*, 2008. **14**(1): p. 38-45.
 107. Paulusma, C.C., et al., *Atp8b1 deficiency in mice reduces resistance of the canalicular membrane to hydrophobic bile salts and impairs bile salt transport*. *Hepatology*, 2006. **44**(1): p. 195-204.
 108. Bull, L.N., et al., *A gene encoding a P-type ATPase mutated in two*

- forms of hereditary cholestasis*. Nat Genet, 1998. **18**(3): p. 219-24.
109. Ujhazy, P., et al., *Familial intrahepatic cholestasis 1: studies of localization and function*. Hepatology, 2001. **34**(4 Pt 1): p. 768-75.
 110. Alpert, S., et al., *Multiplicity of hepatic excretory mechanisms for organic anions*. J Gen Physiol, 1969. **53**(2): p. 238-47.
 111. Ishikawa, T., et al., *ATP-dependent primary active transport of cysteinyl leukotrienes across liver canalicular membrane. Role of the ATP-dependent transport system for glutathione S-conjugates*. J Biol Chem, 1990. **265**(31): p. 19279-86.
 112. Nishida, T., et al., *ATP-dependent organic anion transport system in normal and TR- rat liver canalicular membranes*. Am J Physiol, 1992. **262**(4 Pt 1): p. G629-35.
 113. Paulusma, C.C., et al., *A mutation in the human canalicular multispecific organic anion transporter gene causes the Dubin-Johnson syndrome*. Hepatology, 1997. **25**(6): p. 1539-42.
 114. Medina, J.F., et al., *Decreased anion exchanger 2 immunoreactivity in the liver of patients with primary biliary cirrhosis*. Hepatology, 1997. **25**(1): p. 12-7.
 115. Dan L. Longo; Dennis L. Kasper; J. Larry Jameson; Anthony S. Fauci, S.L.H.J.L., *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th ed. Vol. 2. 2012: McGraw-Hill.
 116. Riordan, J.R., et al., *Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA*. Science, 1989. **245**(4922): p. 1066-73.
 117. Feranchak, A.P. and R.J. Sokol, *Cholangiocyte biology and cystic fibrosis liver disease*. Semin Liver Dis, 2001. **21**(4): p. 471-88.
 118. Geier, A., et al., *Principles of hepatic organic anion transporter regulation during cholestasis, inflammation and liver regeneration*. Biochim Biophys Acta, 2007. **1773**(3): p. 283-308.
 119. Geier, A., P. Fickert, and M. Trauner, *Mechanisms of disease: mechanisms and clinical implications of cholestasis in sepsis*. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2006. **3**(10): p. 574-85.
 120. Trauner, M., et al., *Molecular regulation of hepatobiliary transport systems: clinical implications for understanding and treating cholestasis*. J Clin Gastroenterol, 2005. **39**(4 Suppl 2): p. S111-24.
 121. Shoda, J., et al., *Bezafibrate stimulates canalicular localization of NBD-labeled PC in HepG2 cells by PPARalpha-mediated redistribution of ABCB4*. J Lipid Res, 2004. **45**(10): p. 1813-25.
 122. Kullak-Ublick, G.A., B. Stieger, and P.J. Meier, *Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease*. Gastroenterology, 2004. **126**(1): p. 322-42.
 123. Jacquemin, E., et al., *Transient neonatal cholestasis: origin and outcome*. J Pediatr, 1998. **133**(4): p. 563-7.
 124. Fischler, B. and T. Lamireau, *Cholestasis in the newborn and infant*. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2014.
 125. *Recomendações da Secção de Neonatologia da Sociedade Portuguesa de Pediatria*. 2013.
 126. Ciocca, M. and F. Alvarez, *[Transient neonatal cholestasis]*. Arch Argent Pediatr, 2011. **109**(2): p. 163-6.
 127. Roberts, E.A., *Neonatal hepatitis syndrome*. Seminars in Neonatology, 2003. **8**(5): p. 357-374.
 128. Roelofsen, H., et al., *Decreased bilirubin transport in the perfused liver of endotoxemic rats*. Gastroenterology, 1994. **107**(4): p. 1075-84.

129. Roelofsen, H., et al., *Impaired hepatocanicular organic anion transport in endotoxemic rats*. Am J Physiol, 1995. **269**(3 Pt 1): p. G427-34.
130. Whiting, J.F., et al., *Tumor necrosis factor-alpha decreases hepatocyte bile salt uptake and mediates endotoxin-induced cholestasis*. Hepatology, 1995. **22**(4 Pt 1): p. 1273-8.
131. Moseley, R.H., et al., *Effect of endotoxin on bile acid transport in rat liver: a potential model for sepsis-associated cholestasis*. Am J Physiol, 1996. **271**(1 Pt 1): p. G137-46.
132. Kusters, A. and S.J. Karpen, *The role of inflammation in cholestasis: clinical and basic aspects*. Semin Liver Dis, 2010. **30**(2): p. 186-94.
133. Lehmann, G.L., et al., *LPS induces the TNF-alpha-mediated downregulation of rat liver aquaporin-8: role in sepsis-associated cholestasis*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008. **294**(2): p. G567-75.
134. Vajro, P., et al., *Cholestasis in newborn infants with perinatal asphyxia*. Acta Paediatr, 1997. **86**(8): p. 895-8.
135. Rosmorduc, O., et al., *Hepatocellular hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in experimental biliary cirrhosis*. Am J Pathol, 1999. **155**(4): p. 1065-73.
136. Corpechot, C., et al., *Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis*. Hepatology, 2002. **35**(5): p. 1010-21.
137. Beaussier, M., et al., *Adaptive bile duct proliferative response in experimental bile duct ischemia*. J Hepatol, 2005. **42**(2): p. 257-65.
138. Fouassier, L., et al., *Hypoxia-induced changes in the expression of rat hepatobiliary transporter genes*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007. **293**(1): p. G25-35.
139. Suchy, F.J., *Neonatal cholestasis*. Pediatr Rev, 2004. **25**(11): p. 388-96.
140. Jolin-Dahel, K., et al., *Parenteral nutrition-induced cholestasis in neonates: where does the problem lie?* Gastroenterol Res Pract, 2013. **2013**: p. 163632.
141. Sheard, N.F. and R.E. Kleinman, *TPN cholestasis in premature infants: the role of parenteral nutrition solutions*. Pediatr Ann, 1987. **16**(3): p. 243, 246, 248 passim.
142. Clayton, P.T., P. Whitfield, and K. Iyer, *The role of phytosterols in the pathogenesis of liver complications of pediatric parenteral nutrition*. Nutrition, 1998. **14**(1): p. 158-64.
143. Albers, M.J., et al., *Male sex predisposes the newborn surgical patient to parenteral nutrition-associated cholestasis and to sepsis*. Arch Surg, 2002. **137**(7): p. 789-93.
144. Wright, K., et al., *Increased incidence of parenteral nutrition-associated cholestasis with aminosyn PF compared to trophamine*. J Perinatol, 2003. **23**(6): p. 444-50.
145. Baserga, M.C. and A. Sola, *Intrauterine growth restriction impacts tolerance to total parenteral nutrition in extremely low birth weight infants*. J Perinatol, 2004. **24**(8): p. 476-81.
146. Steinbach, M., et al., *Demographic and nutritional factors associated with prolonged cholestatic jaundice in the premature infant*. J Perinatol, 2008. **28**(2): p. 129-35.
147. Ozlu, F., et al., *The effect of two different parenteral nutrition regimens on parenteral nutrition-associated cholestasis*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2013. **26**(7): p. 724-7.
148. Javid, P.J., et al., *A contemporary analysis of parenteral nutrition-*

- associated liver disease in surgical infants.* J Pediatr Surg, 2011. **46**(10): p. 1913-7.
149. Carter, B.A. and R.J. Shulman, *Mechanisms of disease: update on the molecular etiology and fundamentals of parenteral nutrition associated cholestasis.* Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2007. **4**(5): p. 277-87.
 150. Puder, M., et al., *Parenteral fish oil improves outcomes in patients with parenteral nutrition-associated liver injury.* Ann Surg, 2009. **250**(3): p. 395-402.
 151. Stieger, B., et al., *Drug- and estrogen-induced cholestasis through inhibition of the hepatocellular bile salt export pump (Bsep) of rat liver.* Gastroenterology, 2000. **118**(2): p. 422-30.
 152. Kalyan Ram Bhamidimarri, M., MPH, Eugene Schiff, MD, *Drug-Induced Cholestasis.* Clin Liver Dis, 2013. **17**: p. 519-531.
 153. Meier, Y., et al., *Interindividual variability of canalicular ATP-binding-cassette (ABC)-transporter expression in human liver.* Hepatology, 2006. **44**(1): p. 62-74.
 154. Garzel, B., et al., *The role of bile salt export pump gene repression in drug-induced cholestatic liver toxicity.* Drug Metab Dispos, 2014. **42**(3): p. 318-22.

Anexos

Anexo 1:

Diagnósticos diferenciais de Colestase Neonatal ^(1,2)

Estruturais

- Atresia Biliar
- Quisto do colédoco
- Síndrome de Caroli
- Coledocolitíase
- Colangite esclerosante neonatal
- Perfuração biliar espontânea
- Expressão anormal de vilina

Infeções

Virais

- TORCH
- VIH
- Echovirus
- Adenovirus
- Coxsackie
- HBV
- Hepatite A
- Hepatite B
- Parvovirus B19

Bacterianas

- Sépsis
- Infeções do trato urinário

Estruturais

- Hipotireoidismo
- Hipopituitarismo

Cromossômicas

- Trissomias do 13, 18 e 21
- Síndrome de Turner

Metabólico/Genético

- Síndrome de Allagille
- Défice de alfa 1 antitripsina
- Colestase Familiar Progressiva Intra-hepática
- Síndrome de Dubin-Johnson
- Síndrome de Rotor
- Fibrose cística
- Argininemia
- Galactosemia
- Tirosinemia hereditária tipo 1
- Fructosemia Hereditária
- Doença do armazenamento de colagénio tipo IV
- Doença de Gaucher
- Doença de Niemann Pick
- Doença de Wolman
- Citrulinemia neonatal tipo II
- Doenças congénitas da síntese dos ácidos biliares
- Doenças mitocondriais

Tóxicos

- Nutrição parentérica
- Fármacos

Doenças Sistémicas

- Choque
- LES neonatal

Outras

- Linfocitose hemofagocítica
- Leucemia Neonatal
- Eritroblastose fetal

1. De Bruyne et al. *Clinical practice: Neonatal cholestasis*. European Journal of Pediatrics (2011)
2. Roberts, Eve A. *Neonatal hepatitis syndrome*. Seminars in Neonatology (2003)

Anexo 2:

Fármacos colestáticos ⁽³⁾

<u>Colestase hepato-canalicular</u>	
Penicilinas	Amoxiciclina-clavulanato Flucloxacilina Dicloxacilina Cloxacilina Oxacilina Amoxicilina Penicilina benzatínica Carbenicilina Ticarcilina
Sulfonamidas	Trimetropim-sulfametoxazole Sulfasalazina
Macrólidos	Eritromicina Telitromicina Claritromicina Azitromicina
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina Levofloxacina Moxifloxacina
Tetraciclinas	Tetraciclina Doxiciclina
Antifúngicos	Terbinafine Cetoconazole Itraconazole
Anti-VIH	Stavudine Didanosine Nevirapine
Anti-inflamatórios	Diclofenac Ibuprofeno Alopurinol Azatioprina
Psicotrópicos	Cloropromazina Antidepressivos tricíclicos Imapramina Desipramine Amitriptilina Risperidona Duloxetina Diazepam
Outros	Tolbutamida Glibenclamida Captopril Metildopa Hidralazina Ciclosporina Barbitúricos

Colestase puramente canalicular

Contraceptivos orais**Esteróides anabólicos**

Anti-androgéneos**Varfarina**

Tiabendazole

3.Bhamidimarri, K.R. *Drug-Induced Cholestasis* Clinical Liver Disease 17 (2013)